

THÈSE

658

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

René MALABOU

Né le 10 Janvier 1901 à Limoges (Hte-Vienne)

Etude sur les méthodes physiques et chimiques du dosage des vitamines

Président : M. BEZANÇON, Professeur

PARIS
LIBRAIRIE MÉDICALE MARCEL VIGNE
13, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE

—
1937

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1937

N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

René MALABOU

Né le 10 Janvier 1901 à Limoges (Hte-Vienne)

Etude sur les méthodes physiques et chimiques du dosage des vitamines

Président : M. BEZANÇON, Professeur

PARIS
LIBRAIRIE MÉDICALE MARCEL VIGNÉ
13, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE

1937

I. — PROFESSEURS

LE DOYEN..... G. ROUSSY

MM.

Anatomie	ROUVIERE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	DESGREZ.
Bactériologie	Robrt DEBRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie médicale et générale	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	ABRAMI.
Pathologie chirurgicale	CHEVASSU.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	IIARVIA.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BAUTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LAIGNEL-LAVASTINE.
Pathologie expérimentale et comparée	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	Maurice VILLARET.
Clinique médicale	LOEPER.
»	CARNOT.
»	CLERC.
»	Marcel LABBE.
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants	NOBECOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GULLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	LEMIERRE.
Clinique chirurgicale	CUNEO.
»	GOSSET.
»	GRÉGOIRE.
»	LENORMANT.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	MARION.
Clinique d'accouchements	BRINDEAU.
»	COUVELAIRE.
»	JEANNIN.
Clinique gynécologique	MCCQUOT.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBREDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la Tuberculose	BEZANÇON.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	MATHIEU.
Cardiologie clinique	LAUBRY.
Professeurs sans chaire	HOVELACQUE.
»	MULON.
»	OLIVIER.
»	VERNE.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.		MM.	
AMELINE	Pathologie chirurgic.	LACOMME	Pathologie médicale.
BARIETY	Pathologie médicale.	LANTUEJOL	Obstétrique.
BENARD (Henri)	Pathologie médicale.	LAROCHE (Guy)	Obstétrique.
Justin BESANÇON	Hydrologie.	LELONG	Pathologie médicale.
BERNARD (Etienne)	Pathologie médicale.	LEMAIRE	Pathol. expérimentale
BOULIN	Pathologie médicale.	LEVEUF	Pathologie chirurgic.
BULLIARD	Histologie.	M ^{re} J. LEVY	Pharmacologie.
CATHALA	Pathologie médicale.	LEVY-VALENSI	Neurol. et Psychiatrie
CHEVALLIER	Pathologie médicale.	MENEGAUX	Pathologie chirurgic.
COSTE	Pathologie médicale.	MOLLARET	Pathologie médicale.
DOGNON	Physique.	MOREAU	Pathologie médicale.
FEY	Urologie.	MOULONGUET	Pathologie chirurgic.
FUNCK	Pathologie chirurgic.	MOUQUIN	Pathologie médicale.
GALLIARD	Parasitologie.	OBERLING	Anat. pathologique.
GASTINEL	Bactériologie.	PETIT-DUTAILLIS	Pathologie chirurgic.
DE GAUDART D'ALLAINES	Pathologie chirurgic.	PIEDELIEVRE	Médecine légale.
DE GENNES	Pathologie médicale.	PORTES	Obstétrique.
GAYET	Physiologie	RENARD	Ophthalmologie.
GIROUD	Histologie.	RICHET	Physiologie.
HAGUENAU	Pathologie médicale.	SANNIE	Chimie biologique
HALPHEN	Oto-Rhino-Laryngol.	SEVEQUE	Pathologie chirurgic.
HAZARD	Pharmacologie.	TROISIER	Pathol. expérimentale
HUGUENIN	Anat. pathologique.	TURPIN	Pathologie médicale.
JOANNON	Hygiène.	VIGNES	Obstétrique.
LABBÉ (Henri)	Chimie biologique.	WILMOTH	Pathol. chirurgic.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM.		MM.	
ALGLAVE	Physiologie.	LEROUX	Anat. pathologique.
BUSQUET	Pathologie chirurgic.	NEVEU-LEMAIRE	Parasitologie
CHAILLEY-BERT	Pharmacologie.	PHILIBERT	Bactériologie.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE A TITRE PERMANENT

MM		MM	
ALAJOUANINE	} Clinique médicale.	BASSET	} Clinique Chirurgicale
AUBERTIN		BROCC	
BRULÉ		CADENAT	
CHABROL		GATELLIER	
CHIRAY		HEITZ-BOYER	
DONZELOT		MOURE	
DUVOIR		QUENU	} Clinique obstétricale.
LIAN	} Clinique médicale.	SCHWARTZ	
PASTEUR-VALLERY- RADOT		VELTER	
SEZARY		ECALLE	
		GUENIOT	
		LE LORIER	
		LEVY-SOLAL	
		METZGER	

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.

CHAILLEY-BERT, agrégé	Education physique.
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.
PHILIBERT, agrégé	Microbiologie.
RUPPE	Stomatologie.
WEIL-HALLÉ	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

ET DE MA MÈRE

A MA FEMME

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR F. BEZANÇON

Professeur de Clinique Médicale
Membre de l'Académie de Médecine
Commandeur de la Légion d'Honneur

*Qui a bien voulu nous faire le grand hon-
neur d'accepter la présidence de notre
thèse,*

*Hommage de notre reconnaissance et de no-
tre profond respect.*

A MES JUGES

A M. LE DOCTEUR R. MARCLAND

Directeur de l'Ecole de Médecine et de Pharmacie
de Limoges
Médecin de l'Hôpital général

*Hommage de profonde gratitude et de res-
pectueux attachement.*

A MES MAITRES DES HOPITAUX
ET DE L'ECOLE DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE DE LIMOGES

AVANT-PROPOS

Lorsque les vitamines furent découvertes, on osait à peine concevoir qu'il puisse s'agir d'agents chimiques. Cette mystérieuse propriété de certaines substances alimentaires dépassait presque l'imagination et c'est à peine si l'on parlait de diastases ou d'autres corps agissant à une quantité infinitésimale.

Il y a peu d'exemples d'un progrès aussi rapide de la science. Aujourd'hui, nous connaissons très exactement les propriétés chimiques et même la constitution précise de quelques-unes de ces substances mystérieuses. Deux d'entre elles, la vitamine A et la vitamine C ont même été réalisées par synthèse.

N'y a-t-il pas un paradoxe entre cette connaissance approfondie que nous avons sur la plupart des vitamines et les procédés par lesquels nous les dosons. En effet, on a généralement recours encore à des méthodes biologiques compliquées, coûteuses, longues et incertaines pour établir la valeur vitaminique d'un aliment et même pour doser les vitamines dans les tissus et les humeurs de l'organisme.

Certes, il reste encore des vitamines pour lesquelles seules ces méthodes sont applicables. Ainsi, la vitamine D, malgré que nous connaissions sa constitution chimique, reste jusqu'ici inaccessible à tous les procédés exacts.

Par contre, il y en a d'autres pour lesquelles nous disposons aujourd'hui de méthodes chimiques ou physiques d'une exactitude, d'une sensibilité et d'une précision remarquables. Ces réactions sont généralement simples, au point de se prêter presque aux applications cliniques.

Bien entendu, pour s'assurer de leur exactitude, il a fallu comparer leurs résultats à ceux des méthodes biologiques, mais une fois ce travail comparatif fait, rien ne s'oppose plus à ce que les méthodes physiques et chimiques bénéficient d'une très large application.

Nous nous sommes donc proposé dans ce travail de les résumer et de montrer leurs possibilités, surtout au point de vue médical. En effet, ces méthodes, plus qu'aucune autre, doivent pouvoir être appliquées à la médecine. Comme on verra, elles permettent le dosage des vitamines dans le sang, dans les urines, dans les tissus, etc..., et donner ainsi une idée exacte des avitaminoses, des hypervitaminoses, etc...

Nous osons espérer qu'un tel travail n'est pas

inutile, car il attire l'attention sur des faits peu connus et cependant riches en possibilités d'applications.

**

Nous avons adopté pour notre travail le plan suivant :

I. — Les avantages des méthodes chimiques et physiques.

a) Dosage de la vitamine A.

I. — La réaction de Carr et Price.

II. — La méthode spectrophotométrique de Chevallier.

b) Dosage de la vitamine B².

I. — La méthode à la lumiflavine.

II. — La méthode à la fluorescence.

c) Dosage de la vitamine C.

I. — Méthode à l'indophénol.

d) Résultats et applications.

I. — Vitamine A.

II. — Vitamine B².

III. — Vitamine C.

I

LES AVANTAGES DES METHODES PHYSIQUES ET CHIMIQUES

Les méthodes de dosage actuelles des vitamines en usage dans les laboratoires spécialisés sont des procédés basés sur l'action préventive ou curative de ces substances dans les carences. Les animaux sont nourris pendant longtemps avant le dosage avec une alimentation carencée en la substance qu'on veut doser. Puis on administre la substance et l'on étudie les animaux qui doivent guérir de leurs manifestations de carence (en cas de méthode curative) ou ne pas présenter de carence (en cas de méthode préventive).

On comprend à quel point de telles méthodes sont difficiles. Elles demandent une installation spéciale, une surveillance continuelle des animaux et même à ce prix elles ne donnent souvent pas de résultats satisfaisants. En effet, il y a de très grandes variations individuelles dans les modes de réaction des animaux et chaque dosage doit être fait sur un grand nombre. On prend alors la moyenne des résultats.

Il n'est pas difficile de montrer les avantages des méthodes qui évitent de tels inconvénients. Si certains procédés physiques et chimiques demandent l'emploi d'appareils coûteux, leur prix doit être rapidement amorti, alors que les méthodes biologiques demandent toujours des animaux qui doivent être soignés et nourris.

Comme on le verra, les procédés chimiques ou physiques, actuellement parfaitement au point, deviennent rapidement mécaniques, avec un minimum de coefficient personnel. Ils sont d'une très grande précision et leur spécificité (tout au moins pour certaines d'entre elles) est telle que les conventions internationales commencent par préférer leurs données à celles des méthodes biologiques. Leur sensibilité est au moins égale à celles des méthodes de carence.

D'ailleurs, nous allons les envisager maintenant séparément.

B. — DOSAGE DE LA VITAMINE B²

I

LA RÉACTION DE CARR ET PRICE

Dès 1925, Rosenheim et Drummond ont montré que certains sels d'arsenic donnent avec la vitamine A une coloration bleue. En 1926, Carr et Price ont substitué à l'arsenic des sels d'antimoine, en particulier le trichlorure d'antimoine.

Lorsqu'on veut étudier la teneur en vitamine A d'une substance, il est nécessaire, avant de pratiquer la réaction, de la soumettre à un certain nombre d'opérations chimiques destinées à l'adopter à la réaction. La vitamine A se trouvant dans la fraction insaponifiable des corps gras, on soumet la substance à une saponification. L'insaponifiable est ensuite extrait par l'éther de pétrole qui est évaporé, puis le résidu est repris par le chloroforme.

Le réactif doit être préparé avec un soin particulier. Il faut disposer d'un chloroforme pur, car des traces d'eau gênent la réaction. Aussi ne doit-on em-

ployer qu'un chloroforme qu'on a distillé soi-même.

Le trichlorure d'antimoine est lavé au chloroforme et desséché avec de l'acide sulfurique. On fait alors une solution chloroformique saturée de trichlorure d'antimoine. Elle est à peu près à 21 ou 23 %. A l'abri de la lumière, elle peut être conservée environ quatre semaines.

La réaction se fait de la façon suivante :

On met dans une des cuvettes d'un colorimètre 0,2 cc. de la solution chloroformique de l'extrait à doser. On ajoute 2 cc. de la solution de trichlorure d'antimoine, on agite et on fait rapidement la lecture, car la coloration n'est pas stable.

Le résultat ainsi obtenu est comparé au colorimètre avec ce que donne une solution titrée de vitamine A, mise dans les mêmes conditions.

Quelques modifications ont été apportées à la méthode :

a) Norris et Church emploient une solution saturée de trichlorure d'antimoine à basse température. Ce procédé aurait l'avantage d'une conservation plus grande de la coloration;

b) Les modifications de Smith et de Moore consistent en des modes d'extraction légèrement différents;

c) Bleyer, Schlemmer, Müller et Parchem emploient une source de lumière bleue.

Lorsqu'on emploie le colorimètre de Lovibond, on obtient automatiquement la valeur en unités dites Lovibond.

Le seul reproche qu'on peut faire à cette réaction, c'est qu'elle est positive avec certains pigments caroténoïdes. Le carotène, qui est, comme on le sait, la provitamine A, donne aussi la coloration bleue, mais environ 20 fois moins. Pour éliminer cette substance, Morgan fait également un dosage colorimétrique de la couleur jaune. On sait en effet que la vitamine est incolore, tandis que le carotène est jaune.

Rosenthal ajoute aux substances de la pyrocathéchine. Celle-ci donne une coloration rouge avec la vitamine, et bleue avec le carotène. On peut encore ainsi distinguer les deux substances.

Morgan a comparé les données des méthodes biologiques et celles des méthodes au trichlorure d'antimoine et trouve des valeurs légèrement supérieures avec ces dernières.

II

LA METHODE SPECTROPHOTOMETRIQUE DE CHEVALLIER

La vitamine A absorbe sélectivement les rayons ultra-violetes de 320 à 330 μ . La coloration bleue obtenue par la réaction au trichlorure d'antimoine absorbe les rayons de 608 à 612 μ .

Chevallier extrait la vitamine dans de l'hexane, après avoir éliminé les acides gras et toutes les substances gênantes par l'extraction à l'alcool acide. La fluorescence provoquée par l'absorption des rayons ultra-violetes donne naissance à un courant électrique qui est mesuré avec un galvanomètre.

Le dosage est fait à l'aide de la connaissance du rapport entre l'intensité de l'irradiation, le courant suscité par la fluorescence et la concentration du liquide.

Les résultats obtenus par Chevallier sont en complet accord avec ceux des méthodes biologiques.

Drummond et Morton pratiquent également le

dosage spectrophotométrique de la couleur bleue obtenue par la réaction de Carr et Price et trouve que les résultats de celui-ci sont concordants avec ceux de la réaction au trichlorure d'antimoine pratiquée simplement au colorimètre.

La méthode de Chevallier est actuellement celle qui permet le dosage le plus exact de la vitamine A. Malgré son apparente complication, elle est d'une grande simplicité et consiste en des lectures de cadrans dont on calcule aisément le résultat.

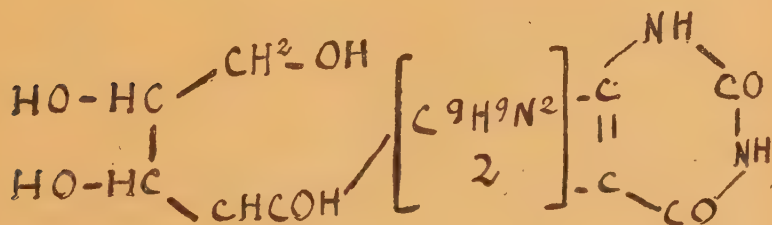
D'ailleurs la conférence internationale des vitamines de 1934 a adopté comme méthode de détermination de la vitamine l'absorption à la longueur d'onde de 328 μ . La conférence a édité un tableau permettant la comparaison rapide avec d'autres unités.

A. — DOSAGE DE LA VITAMINE A

I

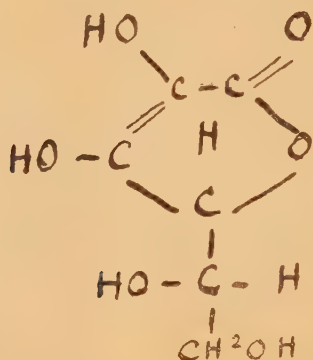
LA METHODE A LA LUMIFLAVINE

La vitamine B₂, nettement distinguée aujourd'hui de la vitamine antibéri-bérique ou B₁, semble être une flavine de la formule suivante :

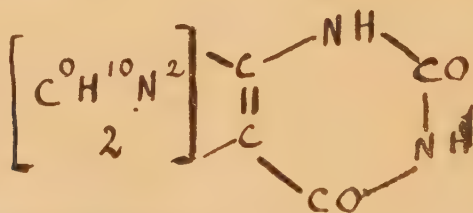


Lorsqu'on soumet cette flavine à l'action d'une lumière intense (une ampoule électrique assez forte)

elle se transforme en lumiflavine, colorée en vert jaunâtre, dont la constitution chimique est la suivante :



Cette lumiflavine est soluble dans le chloroforme (Wagner-Jauregg). En agitant donc la solution qui a subi l'influence de la lumière avec du chloroforme, on peut en extraire la lumiflavine et la comparer au photomètre.



La méthode n'est pas encore complètement au point; en particulier on ne sait pas s'il n'existe pas de lumiflavines insolubles dans le chloroforme. On n'est même pas sûr que toute la flavine se transforme par l'effet de la lumière.

Voilà comment on procède en pratique :

On purifie d'abord les extraits soit simplement par le chloroforme soit par l'absorption. On peut également utiliser une solution de permanganate de potasse normale qu'on peut agir sur la solution auparavant acidulée.

Pour procéder à l'illumination, on alcalinise la solution à la soude N/2. Puis on verse les solutions alcalines dans des récipients plats. La source lumineuse est une ampoule électrique de 600 watts, posée à la distance de 20 à 30 cm. La température ne doit pas dépasser 20° et l'on doit installer un refroidissement à l'aide de ventilateurs ou à l'aide de la glace posée autour des cuvettes.

Lorsque la préparation a subi pendant deux heures l'effet de la lumière, on l'acidifie à l'acide acétique et on fait les extractions successives au chloroforme. Le chloroforme est desséché au sulfate de soude, réduit à un faible volume et l'on procède alors aux comparaisons photométriques.

La précision de la méthode est considérable, mais seulement pour des quantités assez grandes. Lorsque la quantité est inférieure à 0,1 mgr., les erreurs peuvent être considérables. Dans ces cas-là,

on doit ajouter aux résultats au moins 200 à 300, p. 100.

Bien entendu, cette méthode-là ne peut être mise sur le même plan que celles de la vitamine A, mais n'oublions pas qu'il s'agit d'un corps dont les propriétés chimiques ne nous sont pas encore complètement connues.

II

LA METHODE A LA FLUORESCENCE

On peut également déterminer la teneur en flavine d'une solution par une méthode purement physique, selon le procédé préconisé par von Euler.

On prépare un extrait de la substance par l'acétone aqueuse. Cette solution est ensuite soumise à l'action de l'éther de pétrole, afin d'éliminer toutes les substances lipoïdiques parmi lesquelles certaines sont fluorescentes.

On procède alors à la mesure de la fluorescence. Cette réaction est infiniment moins spécifique et moins bien délimitée que la méthode de Chevallier. On mesure la fluorescence globale et non pas seulement celle qui se produit à une certaine longueur d'onde.

D'ailleurs, il peut y avoir dans les milieux biologiques des corps très fluorescents qui peuvent fausser complètement la réaction. Cette méthode est donc beaucoup moins spécifique encore que le procédé à la lumiflavine.

Néanmoins, ainsi que nous le verrons, les résultats comparés des deux méthodes que nous venons de voir sont concordants entre eux et ils sont également en accord avec les résultats des méthodes d'évaluation biologiques.

C. — DOSAGE DE LA VITAMINE C

I

METHODE A L'INDOPHENOL

La constitution chimique de la vitamine C est aujourd'hui bien connue, grâce aux travaux de Szent-Györgyi. C'est l'acide ascorbique :

Cette substance exerce une action réductrice très puissante sur certains corps. On utilise à cet effet les matières colorantes dérivées de l'indophénol, en particulier le 2,6, dichlorophénol-indophénol.

Voilà comment on procède, selon Tillmans, Hirsch et Jakisch. On découpe les tissus en fins fragments qu'on laisse macérer dans de l'eau à la glacière pendant plusieurs jours. On ajoute alors de l'acide sulfurique à 2 ou 3 p. 100 et on fait bouillir le tout pendant dix minutes. On filtre alors sur une toile, on ramène le liquide à une quantité connue et l'on dose.

Le réactif consiste en une solution de chlorure de titane qui est d'abord soumise à l'action du réactif suivant :

4,8221 gr. de ferrocyanure de potassium.

0,02/N acide sulfurique.

1 litre d'eau.

On fait agir alors le mélange des deux solutions sur le colorant indophénolique, puis on fait agir sur celui-ci la solution à titrer.

Le résultat est calculé par rapport à la quantité de la substance à titrer nécessaire pour décolorer une quantité déterminée d'indophénol.

Siebert a modifié la méthode en utilisant le nitrobenzène qui vire du vert jaunâtre au vert rougeâtre sous l'influence de la vitamine.

Bleyer, Schlemmer et Cahnmann ont créé une méthode spécialement appropriée au dosage de la vitamine dans le lait. On met 25 cmc. de lait dans un flacon avec 10 cmc. d'une solution d'acétate neutre de plomb à 10 p. 100. On ajoute alors 15 cmc. d'une solution de sulfate de soude à 20 p. 100. On filtre et l'on ajoute une quantité connue de 2,6 dichlorophénol-indophénol jusqu'à coloration bleue. La réaction se fait entre les pH 5,5 et 6,5.

Cette méthode donnerait des résultats très satisfaisants pour le lait (Kieferle).

Harris et Ray apportent des précisions à la méthode, en titrant à l'avance la solution d'indicateur à l'aide d'une solution d'acide ascorbique à titre

connu. La méthode devient ainsi extrêmement simple. On sait d'avance que telle quantité d'acide ascorbique réduit telle quantité de colorant. On saura alors lorsqu'on fait agir une solution à titre inconnu à quelle dose correspond la quantité de colorant réduite.

Van Ekelén a ainsi mis au point le dosage de la vitamine C dans le sang. Après désalbumination à l'acide trichlorécétique et on traite à l'hydrogène sulfuré. On peut alors faire agir le colorant. Il est cependant préférable de précipiter à l'acétate de mercure pour éliminer la cystéine et l'ergothionéine qui peuvent fausser la réaction.

Le dosage dans l'urine peut se faire par deux méthodes :

a) Par une solution d'iode N/100 en milieu fortement acide;

b) Par la réduction de l'indophénol.

Il y a dans l'urine 30 à 33 mgr. d'acide ascorbique par 24 heures.

D. — RESULTATS ET APPLICATIONS

I

VITAMINE A

Les réactions physiques et chimiques de la vitamine A ont donné lieu à des applications nombreuses. Elles ont permis de déterminer non seulement la teneur en vitamine des principaux aliments de l'homme, mais aussi elles ont aidé à établir le métabolisme de la vitamine : les tissus dans lesquels elle est mise en réserve et dans lesquels elle se transforme ou se détruit. On sait aussi le taux de la vitamine A dans le sang.

Selon Menken, il y a dans 10 cmc. de sérum 8,4 unités bleues Lovibond et de 1 à 6 unités jaunes. Les éléments figurés du sang ne contiennent aucune trace de vitamine A.

Lundborg toujours dans le sang fait une extraction à l'éther, puis fait évaporer l'éther et reprend le résidu au chloroforme.

On peut également ajouter au sang de l'ammo-

niaque concentrée. Il se fait alors une substance pâteuse dans laquelle on fait l'extraction dans 50 cmc. d'éther et 50 cmc. d'éther de pétrole.

En déterminant à la fois la valeur bleue et la valeur jaune, on peut faire le diagnostic entre les carotinémiés et les hypervitaminoses. Par contre, lorsque le taux est trop bas, la méthode pourrait servir au diagnostic des avitaminoses.

Malheureusement, nos connaissances sont encore trop peu avancées à cet égard et on n'a encore fait aucune utilisation pratique de ces procédés.

La méthode de Chevalier a également servi à des déterminations dans les tissus et pourrait être employée pour le dosage dans le sang.

Les méthodes chimiques et physiques ont permis de déterminer la teneur d'un certain nombre de substances en vitamine B2.

Dans le lait de vache, il y a 1 mgr. par litre, dans le foie de bœuf 16 mgr. par kilo.

L'urine humaine contient 0,075 mgr. par litre.

Le sang de bœuf contient 0,025 mgr. par litre et la vitamine est répartie d'une façon égale dans le plasma et dans les globules.

Il n'y a pas eu à notre connaissance de dosage dans le sang humain.

III

VITAMINE C

C'est la méthode de dosage chimique de la vitamine C qui a été le plus utilisée jusqu'ici et c'est elle qui sert actuellement dans toutes les recherches, en particulier dans celles de Giroud et ses collaborateurs sur le métabolisme de cette vitamine.

Voici quelques résultats donnés par Bomskov :

Sang (vache)	0,53
Plasma	0,53
Globules	0,72
Humeur aqueuse	1,80
Liquide céph.-rach.	3
Urine	1,30

En l'absence de travaux de base sur les doses normales, on ne peut tirer aucune conclusion clinique des résultats de la méthode.

CONCLUSIONS

1° La plupart des vitamines ne peuvent être dosées que par des méthodes biologiques basées sur leur action préventive ou curative sur les carences. Ces méthodes sont laborieuses, coûteuses et dans l'ensemble peu précises. Pour un certain nombre de vitamines :

Vitamine A,

Vitamine B2,

Vitamine C,

nous disposons actuellement de méthodes chimiques ou physiques plus rapides, plus précises et aussi spécifiques et aussi sensibles que les réactions biologiques.

2° La vitamine A peut être caractérisée et dosée, d'une part par la réaction colorée au trichlorure d'antimoine, d'autre part par la méthode spectrophotométrique. Cette dernière est de loin la meilleure méthode de dosage de vitamines qu'on connaisse actuellement.

3° La vitamine B2 peut être dosée grâce à sa transformation sous l'effet de la lumière en une lumiflavine colorée et d'extraction facile.

4° La vitamine C possède une excellente réaction colorimétrique : elle réduit certaines substances colorantes dérivées de l'indophenol, la réduction étant proportionnelle à la quantité de vitamines mise en présence de la substance colorante.

5° Les réactions physiques et chimiques des vitamines ont déjà rendu de très grands services et sont susceptibles d'en rendre d'autres encore. Elles permettent en effet de doser les vitamines dans les humeurs et dans les tissus, rendant ainsi possible l'étude de leur métabolisme. Grâce à leur relative simplicité, elles pourraient même être exécutées dans les laboratoires cliniques.

Vu, le Doyen :
ROUSSY.

Vu, le Président :
BEJANÇON.

Vu et permis d'imprimer :
Le recteur de l'Académie de Paris,
CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

- Bleyer, Schlemmer et Muller-Parchem.* Arch. der Pharm. 1931, t. 566, p. 269.
- Bomskov.* Methodik der Vitaminoforschung. Leipzig, 1935.
- Carr et Price.* Biochem. Journ. 1926, t. 20, p. 497.
- Chevallier.* Sur la spectrophotométrie dans l'ultra-violet et son application à l'analyse biologique. Bull. Soc. Chim. biol., avril 1935.
- Hernis et Ray.* Biochem. Journ. 1933, t. 27, p. 302.
- Kieferle.* Berichte der Physiol. 1933, t. 75, p. 92.
- Lundborg.* Biochem. Ztschft. 1933, t. 258; p. 325.
- Menken.* Deutsche Med. Wchschrift, 1932, p. 1484.
- Morton et Drummond.* Biochem. Journ. 1930, t. 24, p. 136.
- Norris et Church.* J. Biol. Chem. 1929, t. 85, p. 477.
- Rosenheim et Drummond.* Biochem. Journ. 1927, t. 21, p. 1329.
- Rosenthal.* Biochem. Ztschft. 1933, t. 267, p. 119.
- Tillmans, Hirsch et Jakisch.* Biochem. Ztschft. 1932, t. 250, p. 312.
- Van Ekelén.* Acta néerl. Physiol. 1933, t. 3, p. 104.
- Wagner-Jauregg.* Angew. Chem. 1934, t. 47, p. 318.

TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS.	9
I. — <i>Les avantages des Méthodes Physiques et Chimiques</i>	13
B. — DOSAGE DE LA VITAMINE B ²	
I. — <i>La réaction de Carr et Price</i>	15
II. — <i>La méthode Spectrophotométrique de Chevallier.</i>	19
A. — DOSAGE DE LA VITAMINE A	
I. — <i>La méthode à la Lumiflavine</i>	21
II. — <i>La méthode à la fluorescence</i>	25
C. — DOSAGE DE LA VITAMINE C	
I. — <i>Méthode à l'Indophénol</i>	27
D. — RESULTATS ET APPLICATIONS	
I. — <i>Vitamine A</i>	31
II. — <i>Vitamine B²</i>	32
III. — <i>Vitamine C</i>	33
CONCLUSIONS	35
BIBLIOGRAPHIE	37

